

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：32661

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K17874

研究課題名(和文) カーボンナノドットによる“on-off-on”型発光検出系の構築

研究課題名(英文) Photoluminescent property of CNDs for "on-off-on"-type response mechanisms

研究代表者

森田 耕太郎 (MORITA, Kotaro)

東邦大学・理学部・講師

研究者番号：70396430

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：カーボンナノドット(CND)の発光挙動を制御することで、“on-off-on”型の応答機構を示す発光検出系の構築に取り組んだ。CNDはアミノ酸類を原料として、電気炉熱分解法によって合成した。酸化性の強い無機イオン類の共存によって、CNDの発光強度が低下することが明らかとなった。次亜塩素酸イオンと過マンガン酸イオンによってCNDは不可逆的に酸化され、消光することが分かった。重クロム酸イオンが内部フィルター効果によって、CNDの発光挙動を可逆的に消光させることが確かめられたことから、還元剤と併用することで可逆的な“on-off”発光強度制御に適用可能であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Based on the photoluminescent property of carbon nanodots (CNDs), "on-off-on"-type response mechanisms were explored for the development of photoluminescent detection system. CNDs were obtained by an electric furnace combustion method of amino-acid analogues as a carbon source. CNDs were found to show stable photoluminescence under several pH and ionic strength conditions. Significant photoluminescent quenching of CNDs were recognized in the presence of oxidizing inorganic anions. The irreversible oxidation of functional groups on the CNDs surface were caused by hypochlorite and permanganate. The inner-filter effect was confirmed for the case of dichromate. These results presence evidence of the possibility for the reversible control of photoluminescent intensity of CNDs with dichromate and reducing agents.

研究分野：分析化学

キーワード：カーボンナノドット 発光 検出

1. 研究開始当初の背景

カーボンナノドット (Carbon Nanodot, CND) はフラーレンやカーボンナノチューブ、グラフェンなどのナノカーボン的一种である。また、半導体や貴金属からなるナノ微粒子やナノドットは、優れた発光特性 (高輝度かつ光退色耐性) を示すことから、従来の有機蛍光試薬に変わる発光プローブとしての利用が期待されている。

CND はカーボンナノチューブの副生成物として 2004 年に発見された。その後もロウソクのスス、グラファイト基板のレーザーアブレーション、有機物の熱分解生成物などからも見いだされており、多彩な合成方法がこれまでも報告されている。CND は炭素を主成分として、その表面に酸素を含んだ官能基 (-COOH, -OH, -C=O など) を持つ。そのため、特段の後処理をすることなく優れた水溶液への分散性を示す CND を得ることが容易である。また、主要構成元素が炭素であることから、半導体ナノドットの利用において懸念される、毒性や環境への負荷が皆無である。

2. 研究の目的

CND は貴金属や半導体ナノドットと類似した、量子サイズ効果に基づいた発光挙動を示す。そのため、CND を安全な発光プローブとしての利用が数多く報告されている。しかしながら、その多くは CND の表面官能基と金属イオンとの親和性に基づいた反応機構であり、その発光応答変化は発光強度の減少に基づいた "on-off" 型機構である。

従来の有機蛍光分子では、分子内電子移動と立体構造制御に基づいた分子設計により、標的分子との相互作用による構造変化に伴った発光強度増大を利用した "off-on" 型機構の構築が可能である。現段階では、CND に対して同様の分子設計による高精度な官能基修飾を施すことは困難である。そこで本研究では、CND の発光プローブとしての利用可能性をより広げるために、"on-off-on" 型機構による発応答型の生体関連物質およびイオンの発光検出系の開発に取り組んだ。

3. 研究の方法

CND の合成法には有機化合物を原料とした電気炉加熱法を選択し、電気加熱温度は 160 ~ 250 °C、加熱時間は 0.5 ~ 3 h の範囲とした。CND の原料となる有機化合物として、アミノ酸類 (グリシン、システイン、グルタミン酸、グルタチオン) を選択した。得られた粗生成物を水に分散させ、分析用ろ紙による吸引ろ過と限外ろ過フィルター (MWCO = 10 kDa) による遠心分離で精製した。得られた CND を適宜希釈し、紫外可視吸収スペクトルと発光・励起スペクトル測定によって光学特性を評価した。硫酸キニーネ (QS, $\phi = 0.546$, 0.5 M H₂SO₄) を基準とした相対法によって、CND の発光量子収率を求め

た。酸化剤および還元剤共存下での CND の発光挙動変化を計測した。酸化還元試薬による処理が CND の発光特性に与える影響について検討し、"on-off-on" 型機構構築の基礎検討とした。

4. 研究成果

グルタチオン (GSH) を原料として電気炉加熱分解法によって合成した CND (以下、GSH-CND) は、吸収極大波長 $\lambda_{\text{abs}} = 322$ nm、励起極大波長 $\lambda_{\text{ex}} = 328$ nm、発光極大波長 $\lambda_{\text{em}} = 378$ nm を示した (図 1)。また、CND に特徴的な、励起波長に依存した発光波長の長波長化も確認された。GSH の発光極大波長における発光強度は、励起波長における吸光度 Abs = 0 ~ 0.1 の範囲で直線性を示し、Abs > 0.2 以上では濃度消光することが分かった (図 1 挿入図)。相対法によって求めた発光量子収率は 0.46 であり、中性領域を含む広い pH (3 ~ 10) 条件と純水から濃厚な塩濃度条件 ([NaCl] = 0 ~ 5 mol dm⁻³) においてもほぼ影響を受けずに発光強度を維持できることが確認された。特に、貴金属や半導体ナノドットが塩析効果によって沈降してしまうような高い塩濃度条件でも発光強度を維持できることは、生理食塩水 (0.6 ~ 0.9 wt %, 約 0.15 mol dm⁻³) や海水 (3 wt %, 約 0.6 mol dm⁻³) などの環境試料への適用可能性を示すものである。

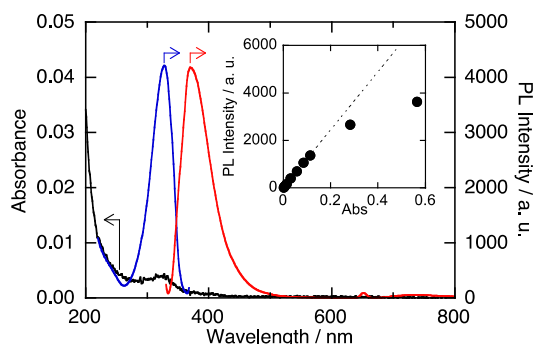


図 1. GSH-CND の吸収 (黒) 励起 (青) 発光 (赤) スペクトル。 $\lambda_{\text{ex}} = 328$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 378$ nm。挿入図: 吸光度と発光強度の直線関係。

GSH-CND 発光挙動に対する酸化還元試薬の影響について検討したところ、過マンガン酸イオン (MnO₄⁻) と次亜塩素酸イオン (ClO⁻) の共存によって、GSH-CND の発光強度が著しく減少することが分かった (図 2)。これらの消光効果は Stern-Volmer 型の動的消光メカニズムでは解析できず、還元剤によって酸化剤濃度を低下させても発光強度の回復が見られなかった。このことから、MnO₄⁻ と ClO⁻ によって GSH-CND の表面官能基が不可逆的に酸化され、励起子と表面トラップの再結合による発光過程が阻害されたためであることが示唆された。一方で、重クロム酸イオン (Cr₂O₇⁻) の濃度増加によって、GSH-CND の発光強度が直線的に減少した。

重クロム酸イオンの吸収極大波長は 326 nm であり、GSH-CND の励起波長と重なることから、内部フィルター効果による消光であることが確認された。また、重クロム酸イオン共存下で、還元剤として水素化ホウ素イオン (BH_4^-) を添加すると、GSH-CND の発光強度が回復することが確認された。これにより、重クロム酸イオンによって GSH-CND の発光強度を減少させた "on-off" 状態とし、還元剤添加による重クロム酸イオンの還元に伴う GSH-CND の発光強度回復を "off-on" 応答として利用することが可能であると示された。よって、これを発展させることによって、生体関連物質や環境試料中に存在する還元性物質 (例えば、アスコルビン酸やクエン酸など) を標的とした "on-off-on" 型応答機構への展開することが期待されるといえる。

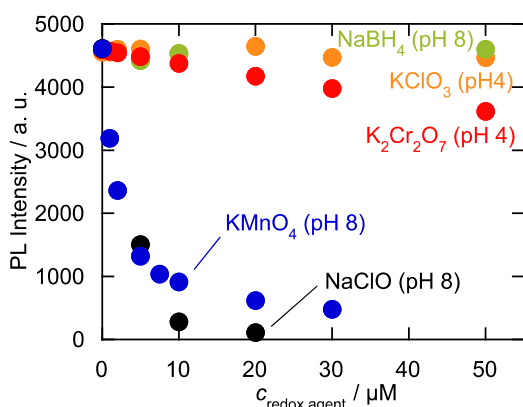


図 2. GSH-CND 発光強度と酸化還元試薬濃度の関係。 $\lambda_{\text{ex}} = 328 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 378 \text{ nm}$ 。

次亜塩素酸イオン共存による CND 表面官能基の酸化過程について電気化学計測によって検討した。プラスチックフォームドカーボン電極 (PFC) 表面に、*N,N*-ジエチルアニリン基を化学修飾し、これを作用電極 (DEA/PFC) として中性条件下で次亜塩素酸イオンの酸化還元応答を測定した。未修飾の PFC 電極で観測された次亜塩素酸イオンの還元電位は $-0.15 \text{ V vs. Ag/AgCl (sat. KCl)}$ であったが、DEA/PFC では $+0.10 \text{ V vs. Ag/AgCl (sat. KCl)}$ へと約 0.25 V 正電位側にシフトすることが分かった。これにより、炭素電極表面のアルキルアミノ基によって次亜塩素酸イオンの還元反応が促進されることが明らかとなった。次亜塩素酸イオンの還元とともに表面官能基の酸化が、GSH-CND 表面でも進行するものと考えられる。

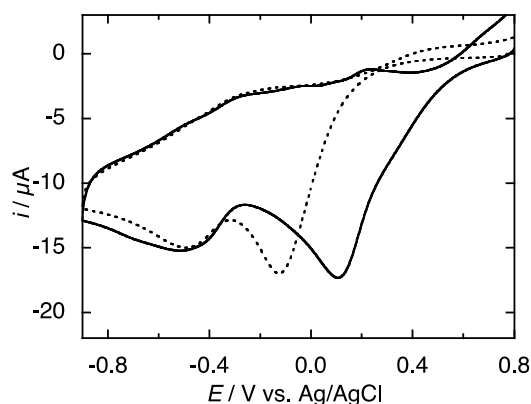


図 3 次亜塩素酸イオンの酸化還元応答。作用電極 PFC (点線)、DEA/PFC (実線)。 $[\text{NaClO}] = 1 \text{ mM}$, $[\text{phosphate}] = 0.05 \text{ M}$ (pH 7.0)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

1. K. Morita and N. Hirayama, "Electrocatalytic Reduction of Free Chlorine at an *N,N*-Diethylaniline-grafted Carbon Electrode for Improved Sensitivity in Amperometric Detection", *Anal. Sci.*, **2017**, 33, 5, 査読有, [DOI:10.2116/analsci.33.5].
2. M. Onizaki, K. Morita and N. Hirayama, "Synergistic Ion-Pair Extraction of Strontium Ion with *tri-n*-Octylphosphine Oxide and dicyclohexano-18-crown-6", *Anal. Sci.*, **2016**, 32, 1367, 査読有, [DOI:10.2116/analsci.32.1367].
3. S. Yamamoto, H. Nagatani, K. Morita and H. Imura, "Potential-Dependent Adsorption and Orientation of Meso-Substituted Porphyrins at Liquid-Liquid Interfaces Studied by Polarization-Modulation Total Internal Reflection Fluorescence Spectroscopy", *J. Phys. Chem. C*, **2016**, 120, 7248, 査読有, [DOI:10.1021/acs.jpcc.6b02178].

[学会発表](計 7 件)

1. K. Morita, "Sensing Applications of Carbon Nanodots for Photoluminescent Detection of Ions in Water", *2017 GNU-Toho Univ Joint Symposium on Advanced Chemical Science*, Gyeongsang National University (Jinju, Korea), 10, Mar., 2017.

2. 森田 耕太郎, 平山 直紀, “ジエチルアニリン修飾炭素電極による市販塩素系漂白剤中の次亜塩素酸イオンの定量”, 日本分析化学会第65年会, 北海道大学工学部 (北海道札幌市), 2016 09 16.
3. K. Morita and N. Hirayama, “Amperometric determination of sodium hypochlorite at *N,N*-diethylaniline-grafted carbon electrode”, *Royal Society of Chemistry Tokyo International Conference 2016*, 幕張メッセ (千葉県千葉市), 9, Sep., 2016.
4. 北川 雄也, 永谷 広久, 家中 杏奈, 森田 耕太郎, 井村 久則, “カーボンナノドットの発光特性と液液界面における吸着反応挙動の分光電気化学解析”, 平成27年度日本化学会北陸地区講演会と研究発表会, 金沢大学角間キャンパス (石川県金沢市), 2015 11 27.
5. S. Yamamoto, H. Nagatani, K. Morita and H. Imura, “Potential-Dependent Adsorption of Water-Soluble Porphyrins at Liquid—Liquid Interfaces Studied by Polarization-Modulation Total Internal Reflection Fluorescence Spectroscopy”, *2nd Asian Symposium for Analytical Sciences*, 九州大学伊都キャンパス (福岡県福岡市), 9, Sep, 2015.
6. K. Morita, N. Yamada, M. Nakada, H. Nagatani, N. Hirayama and H. Imura, “Photoluminescent Properties of Carbon Nanodots Prepared by Pyrolytic Synthesis”, *Royal Society of Chemistry Tokyo International Conference 2015*, 幕張メッセ (千葉県千葉市), 3, Sep., 2015.
7. 森田 耕太郎, 山田 尚希, 永谷 広久, 井村 久則, “酸化還元試薬共存下でのカーボンナノドットの発光挙動”, 第75回分析化学討論会, 山梨大学甲府キャンパス (山梨県甲府市), 2015 05 24.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森田 耕太郎 (MORITA, Kotaro)
東邦大学・理学部・講師
研究者番号：7 0 3 9 6 4 3 0

(2) 研究分担者

無し ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

無し ()

研究者番号：

(4) 研究協力者

無し ()